健康芽菜生產與管理栽培技術之建立

李美娟[1*] 邱燕欣[2] 羅英妃[2]

[1] 行政院農業委員會種苗改良繁殖場場長室研究員。臺灣臺中市。

[2] 行政院農業委員會種苗改良繁殖場繁殖技術課助理研究員、助理研究員。臺灣臺中市。

[*] 通訊作者，電子郵件：ann@tss.gov.tw

摘要

芽菜在臺灣為一不受季節影響，可調節因颱風時節蔬菜產量不穩定的蔬菜種類之一，本為一富含維他命及酵素之健康蔬食選擇，卻因生產業者為了商品美觀，在芽菜生產過程添加不當化學物質如亞硫酸鈉或是植物生長調節劑，屢爆食安議題而造成消費者恐慌。本研究在調查綠豆種子帶菌菌相，了解種子帶菌會影響芽菜後期生長造成芽菜商品腐壞，並利用物理性乾熱方式進行種子消毒，提供芽菜生產者非化學處理之技術，也在隨機採樣進行商場通路上芽菜商品添加不當添加物之調查。103 年分析一般芽菜與安全芽菜於生產過程之技術差異及成本分析，並舉行安全芽菜生產技術示範觀摩會廣邀產官學者與會。因歐美飲食習慣的影響，部分芽菜如苜蓿芽和豌豆芽生食的飲食習慣愈加普遍，本研究也針對美國及加拿大對於芽菜生產管理之要求做介紹。

關鍵詞：芽菜、安全生產、加壓培養箱、產程管理。

前言

芽菜為種子發芽成苗作為蔬菜的總稱，英文名稱為 sprout，除了代表芽菜之外，在寓意上也常形容生命力旺盛的含義。芽菜依照其種子來源可分作豆類如綠豆芽、豌豆芽、黃豆芽、黑豆芽、紅豆芽、花豆芽、苜蓿芽等，一般蔬菜作物如蘿菜芽、萵苣芽、小芥菜芽、茴香芽、芝麻芽、小白菜芽、蘿蔔嬰、菠菜芽、莧菜芽、油菜芽等，以及近年來因生力湯或稱精力湯常常一起打汁飲用的單子葉作物如小麥草、大麥草、燕麥草、蕎麥草等。又因生產期程有無綠化照光可細分做芽菜 (無照光) 以及苗菜如豌豆嬰、蘿蔔嬰等。國內常見的芽菜以綠豆芽、黃豆芽、苜蓿芽、豌豆苗、蘿蔔嬰及小麥苗芽等為主。在 2007 年的盛氏

與鄭氏等人於發表文獻中說明，綠豆芽菜在台灣每日需求量已逾 300 噸，其它黃豆芽、紅豆芽、豌豆芽、苜蓿芽等各式芽苗菜亦呈現大幅成長，每年芽菜總供應量超過 15 萬噸，以產業總值而言約新台幣 50 億元，2009 年預估約新台幣 980 億元 (鄭與盛氏，2007)。芽菜的生產培育過程短，生產不受氣候影響為臺灣夏季颱風豪雨後，各項葉菜供應短缺時，最好的替代作物，但是在食安危機頻爆的 2014 年，芽菜的新聞事件卻也在 4 月、7 月、11 月一再躍上社會新聞版面，甚至是國際版面，讓社會大眾開始對於我們吃的芽菜安全提出疑慮。

材料與方法

1. 汙染菌分離

將綠豆種子以無菌水漂洗後，以滅菌鑷子夾取至 Water agar plate，一皿放置 5 顆，放置 5 皿，置於 28℃恆溫培養箱，進行黑暗培養 3-5 日，觀察真菌與細菌落形成，挑取真菌菌絲尖端或細菌單菌落，繼代至馬鈴薯葡萄糖洋菜培養基 (Potato Dextrose Agar；簡稱 PDA)，或是營養洋菜培養基 (Nutrient Agar；簡稱 NA)。

2. DNA 萃取

取 50mg 經液態氮研磨過後乾燥的菌絲體，利用植物 DNA 萃取套組(Plant Genomic DNA Extraction Miniprep System, Viogene U.S.A) 萃取 DNA。將菌絲體加入 400 μL 萃取套組中的 PX1 buffer 與 400 μg 的 RNase A 溶液，放入 65℃水浴槽反應 10 分鐘 (反應期間每隔 2–3 分鐘震盪混合一次)。再加入 130 μL 的 PX2 buffer 混合後，置於冰上 5 分鐘。將樣品移至套組提供的收集管，8000 ×g 離心轉速 2 分鐘。取得 150 μL 上清液並加入 0.5 倍體積的 PX3 buffer 與 1 倍體積的 99.7%酒精，混合後取此溶液於裝置好的 mini column 管子中，利用離心方法讓 DNA 被吸附在 mini column 上，再以 washing buffer 清洗 mini column，最後去除 washing buffer 並加入無菌水，將吸附在 mini column 上面的 DNA 溶出來，保存於-20℃ 。

3. ITS rDNA PCR

聚合酶連鎖反應使用引子 ITS1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) 與 ITS4 (5’-TCCTCCGCTT ATTGATATGC-3’) 根據 White 等人所描述 (White,T.J., 1990)。取 40 ng 的 DNA，加入 2.5 μL 的 10 倍 PCR buffer、10 μM 引子、2.5 mM MgCl2、0.2 mM dNTP、0.5 U taq DNA polymerase 及加入去離子水 (Millipore)，

最後總體積為 25 μL。使用 DNA 酵素聚合反應器進行 PCR，PCR 反應步驟為：起始變性溫度 95℃，5 分鐘。變性溫度 (denature) 95℃，30 秒；煉合溫度 (annealing) 54℃，30 秒；延展溫度 (extension) 72℃，45 秒，循環 35 週期。最後延展溫度 72℃，10 分鐘 (張，2001)。當所有反應結束後，反應產物取 5 μL，以 2% (w/v) 的 agarose gel 於 0.5 倍 TAE 緩衝液，以 110V 電壓電泳分離 20 分鐘，以 0.6 mg/mL ethidium bromide 染色檢測，紫外燈下觀察結果。

4. PCR 產物的純化

將 PCR 產物利用 2% (w/v) 的 agarose gel 電泳分離，切下電泳膠上主要 PCR 產物，使用 QIAGEN 公司的產品 QIA quick PCR Purification Kit 純化產 PCR 產物，獲得濃度為 10-30 ng/μL PCR 產物。

5. 基因序列之比對分析方法

將本研究所使用菌種的 DNA 序列運用 VectNTI 軟體將序列的正反股接合起來。並運用基因序列資料庫 PubMed 提供的軟體 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 尋找資料庫中相似之序列。

6. 種子物理性消毒處理

6.1. 乾熱種子消毒溫度試驗

將綠豆種子分別進行乾熱種子消毒溫度試驗處理後：80℃、75℃、70℃、65℃、60℃、50℃、40℃放置 30 分鐘後，放置 WA 培養基直接培養，觀察各處理間種子消毒之效力與種子發芽率。

6.2. 乾熱種子消毒時間試驗

處理時間 70℃：將綠豆種子分別進行乾熱種子消毒溫度 70℃試驗處理以下時間 10min、30min、60min，放置 WA 培養基直接培養，觀察各處理間種子消毒之效力與種子發芽率。

7. 一般芽菜與安全芽菜生產流程與成本分析

針對中南部數家芽菜生產業者進行實地訪察，針對各場芽菜生產流程、差異產量與成本面進行詢問與記錄，最終整理比較差異。

8. 臺灣部分地區傳統市場、超市或量販店販售之綠豆芽藥劑殘留檢測

自臺灣隨機收購傳統市場、超市或量販店販售之綠豆芽產品，確認包裝密

封後，送至檢測中心，針對以下標的物包括過氧化氫、硼砂、螢光劑、二氧化硫 (檢測靈敏度為 ppm 級)、6-BA (檢測靈敏度為 ppb 級)、2,4-D (檢測靈敏度為 ppb 級)，並記錄該產品之下胚軸長度及寬度。

結果與討論

未經消毒的綠豆種子，經由培養基直接培養可知綠豆種子的真菌汙染率為 42%，細菌汙染率為 24% (圖 1)。

1. 經 ITS 區間 (真菌)、16s rDNA (細菌) 序列增幅、解序分析得知，真菌多以 *Alternaria* sp.、*Fusarium* sp.為主，細菌則以 *Pseudomonas* sp.及 *Pantoea* sp.為主。

   細菌：*Pseudomonas psychrotolerans*、*Sphingobium yanoikuyae*、*Pantoea* sp.、*Enterobacter* sp.、*Sphingomonas panni strain*、*Pseudomonas* sp.、Duganella zoogloeoides、Pseudomonas sp.、Pseudomonas fluorescens。

   真菌：*Alternaria atrans*、*Alternaria* sp.、*Alternaria multirostrata*、*Fusarium equiseti*、*Ampelomyces* sp.、*Alternaria tenuissima*、*Alternaria alternate*、*Aspergillus niger*、*Pleosporales* sp.、*Aspergillus* sp.。

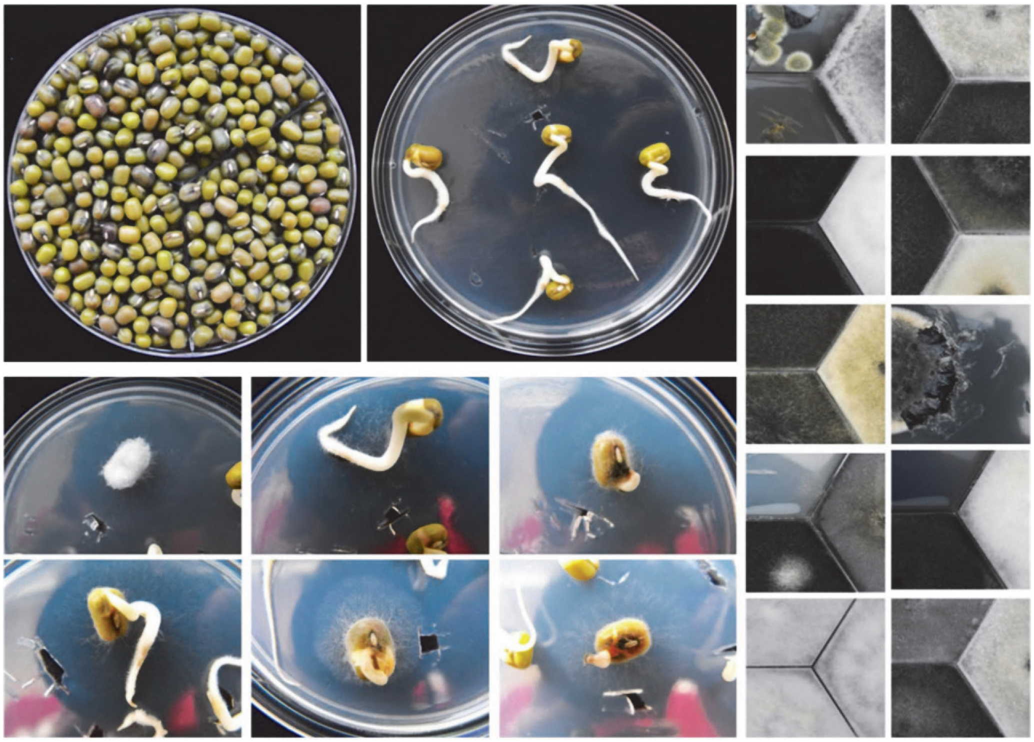

圖 1. 未經消毒的綠豆種子，經由培養基直接培養可知綠豆種子的真菌汙染分離狀況。

2. 經接種試驗得知，部分分離 *Alternaria* 菌株會造成芽菜發育期壞疽。
3. 綠豆種子經 1%次氯酸鈉水溶液消毒 1 分鐘後，經由培養基直接培養可知綠豆種子的真菌汙染率下降至為 10%，細菌汙染率為 2%。
4. 以 70℃熱處理 30 分鐘即可有效將綠豆種子的真菌汙染率下降至為 25%，細菌汙染率為 5%，並且不會影響種子之發芽率。

一般芽菜與安全芽菜生產流程分析

傳統芽菜生產的不同環節，因加快生產流程及加強防腐保鮮，可能置入了人工製的化學物質，例如在種子萌芽時可能加入人工生長調節劑，可以抑制胚根及鬚根生長，促進下胚軸肥大，可以使得成品賣相好口感脆，為增加單位面積產量，原先天天換水浮水式的育芽缸，轉變成不換水僅每隔數小時進行灑水的種子堆疊式育苗，種子與種子間接觸面高，少了水的阻隔，微生物滋生速度加快，也許添加消毒劑避免發黴；而在芽菜生產後期，為使得芽菜根根白帥帥、晶瑩剔透，賣相佳，據媒體報導可能浸泡漂白劑、消毒劑，如保險粉 (亞硫酸鈉) 等，有利於城鄉間運送，也增加了商品的櫥窗期。

而在業界與學界的合作之下，相同的芽菜製程，摒除了化學藥劑、人工生長調節劑的使用外，採納了更多貼近自然操作模式來生產安全芽菜。種子採購入庫前，建立該批號的品質檔案，包括種子來源地、種子內是否殘留農藥、避免已經與農藥拌種的種子、種子發芽率是否正常、種子外觀有無蟲蛀、殘破、畸形、腐霉或雜質過多等問題，在篩選種子同時也篩選種子供應商，在價格與質量上取得平衡，建立種子供應的穩定度。種子入庫後，進行種子倉儲管理，溫度與濕度的控制，減少倉儲病害的發生，定期進行倉儲害蟲的監控與防治，

表 1. 乾熱種子消毒溫度試驗-處理時間 30 分鐘-發芽率及帶菌調查 (各處理 5 重複)。

溫度	80℃	75℃	70℃	65℃	60℃	50℃	40℃
發芽率	85.2%	96.8%	99.6%	99.6%	99.8%	99.4%	99.2%
帶菌率	14%	24.6%	25.4%	31%	37.6%	39.4%	39.4%

表 2. 乾熱種子消毒溫度 70℃試驗-處理時間-發芽率及帶菌調查 (各處理 5 重複) 。

溫度	10min	30 min	60 min
發芽率	97.4%	96.8%	48.2%
帶菌率	30.4%	25.4%	20.2%

圖 2. 傳統芽菜生產流程

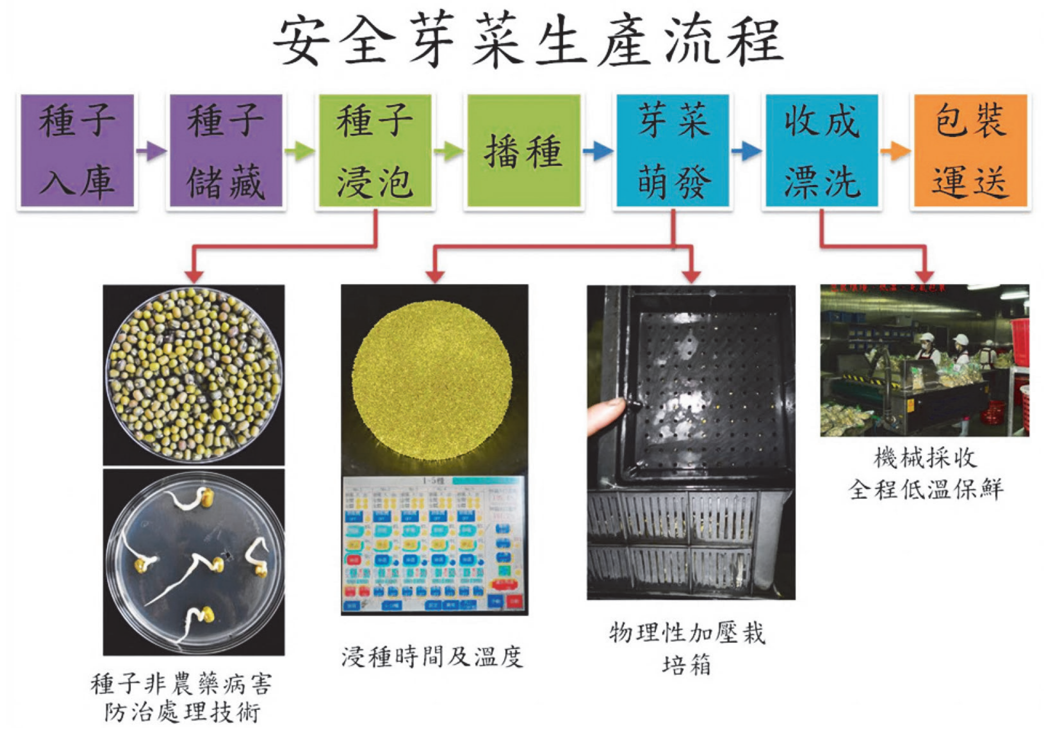

圖 3. 安全芽菜生產技術流程

維持入庫種子的品質。浸種消毒除了傳統 0.5%次氯酸鈉 (NaClO) 浸泡消毒 30 分種，也可以選擇 80℃之溫湯浸種 5 分鐘，將種子表面雜菌去除，減低豆芽萌發遭黴菌汙染的比例。育苗過程中，仿造古人智慧，使用物理性的方式，在平鋪的種子上方擺放加壓層，生長壓力促使植物自發性乙烯生成，抑制芽體徒長。催芽過程中，灑水量及次數，與培育室環境的溫度、通氣度、種子萌發的情形相關，電子自動化科技的導入，可以同時在儀表顯示與設定溫度、通氣度以及灑水頻度。為充分使用培育室空間，可將規格化的加壓芽菜栽育箱進行堆疊，增加單位面積的產量。收成作業則利用規格化的種子盤配套使用機械進行採收，快速切刀，降低人工成本。收穫的之芽菜立即以冰水漂洗減少切口處氧化，進行保鮮，包裝則採用食品級的全程低溫保鮮，不僅減少環境汙染率，更可確保運送到市場消費者手上還保有清脆的口感。

一般芽菜與安全芽菜生產成本分析

訪問傳統與安全芽菜生產業者，建立各項成本表格包括單位面積產量、生產耗水量、採收人力成本、市場售價差異以及總生產成本，估算傳統與安全芽菜生產成本，與售價差異。經估算單位面積產量，在同樣的生產體積下：安心芽菜的產量約為傳統芽菜的三十分之一；生產耗水量：平均每公斤芽菜耗水量，安心芽菜為傳統芽菜的 44.45 倍；採收人力成本：若以人工採收安心芽菜，則安心芽菜成本則高於傳統芽菜生產的 50 倍；市場售價則因為安心芽菜銷售區塊集中於量販通路，價位略高，較傳統市場的傳統芽菜價高約 4.5 倍，若同在量販通路，安心芽菜的售價略高 1.75 倍。總生產成本：安心芽菜的總生產成本高於傳統芽菜的 2.63 倍。

臺灣部分地區傳統市場、超市或量販店販售之綠豆芽藥劑殘留檢測

102 年度於台中市地區包括大賣場、傳統市場及小型超市購買 12 個綠豆芽或黃豆芽樣品，12 個樣品經檢測其二氧化硫、2,4-D 及 6-BA 殘留，結果 1 件檢出漂白劑二氧化硫，檢出率 8%。目前食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」規定，食品級的低亞硫酸鈉等亞硫酸鹽類可用於部分「加工食品」，但不准許用在生鮮型態供應的生鮮蔬菜水果，將低亞硫酸鈉用於豆芽菜等蔬菜漂白或防腐都屬違法。目前市售抽檢的芽菜多以低亞硫酸鈉為檢測標的物。

安全芽菜生產技術示範觀摩會

承蒙健康管理生產體系及關鍵技術之研發計劃支持，在 103 年 6 月 26 日本場於雲林縣西螺鎮漢光果菜生產合作社辦理安全芽菜生產技術示範觀摩會，由本場楊佐琦場長主持，本場李美娟研究員及漢光果菜生產合作社廖丁川主席進行技術介紹與實地觀摩，與來自台灣各地的芽菜生產業者、各改良場研究人員

等約 60 人次，現場熱烈討論並獲得極大迴響。本次觀摩會參與職務別以試驗改良場所及研究單位為主，其次為芽菜生產業者，本次舉行芽菜觀摩會前擬定邀請名單時，詢問農政相關單位並無芽菜業者名錄，因此本次觀摩會以發文於試驗研究單位、縣市政府及農會為主，希望以縣市政府與農會通知轄區內業者，並電話邀請通路業者及有機芽菜生產者，希望能藉此次觀摩會架構起連繫網絡。經由問卷調查參與者肯定研究單位對於芽菜產業的關注，更希望此類活動能讓多一些農民、消費者，甚至公教人員來研習，將「安全農業」的知識推廣給更多人瞭解，對土地、對人民身體健康、對農業經濟都能有所受益。

結論

芽菜健康管理面臨問題-台灣須要安全芽菜生產技術之建立的理由，可以從生產面與消費面兩個面向討論，生產面：進入門檻低，但是芽菜生產廠房設備依規模差異迥異，小至水缸、100 公升塑膠水缸，大至電腦控制溫濕度芽菜培育室，現階段並無只能以末端產品的抽查檢測出不可添加物時，以食品安全衛生管理法加以處罰。消費面：消費者對於市售芽菜的形態已停留在淨白、粗短的印象，必須從消費端宣傳。芽菜的食安問題解決之道，除了生產者更新安全生產流程、政府宣導與不定期檢測把關之外，也需要消費者睜大眼睛，清楚分辨安全芽菜細長略帶金黃的模樣，與可能添加人工生長調節劑及漂白劑後，胚軸粗大肥嫩白皙、無軸根、頂部豆瓣未開芽菜的差異性，安全芽菜的生產需要消費者的了解與支持，從消費端對於安全芽菜的需求動力，才能順遂在業界推動安全芽菜生產流程，還原人們對於芽菜這個美味食材的信任。

美國芽菜生產流程

亞洲與歐美過去對於芽菜的食用習慣不同，芽菜在亞洲多為熟食方式烹煮，在歐美國家則多為生食：包括芽菜沙拉或是夾入三明治麵包等，因而對於芽菜生產過程中，導致腸胃不適的微生物管控相較嚴謹。由於芽菜生產過程較類似食物處理過程，因而在美國的相關規定屬於美國食品藥物管理局 (U.S. Food and Drug Administration, FDA) 管理。美國在 2007 年境內發生生食芽菜爆發病原菌污染進行調查，普查 45 家芽菜生產廠，最終發現當時芽菜生產者普遍缺乏安全芽菜生產概念，因而決議 1. 芽菜生產業者必須加強相關食品安全，good agricultural practices GAPs, good manufacturing practices, GMPs 以及危害分析重要管制點 (Hazard Analysis Critical Control Point, HACCP) 資訊的了解與導入。2.Good agricultural practices (GAPs) 必須系統性的導入以降低污染種子之病

原菌持續感染。3.芽菜種子的清潔,儲藏等各項作為必須以降低病原菌持續感染（污染）為考量。4.芽菜種子必須處理一次或一次以上的處理，以降低病原菌污染種子的可能性。5.建立 GMPs 以及食品安全系統包括常態性微生物檢測 (HACCP 認可)即可追朔系統。6.加強各項芽菜安全的研究，包括降低病原菌污染甚至去除病原菌污染，病原污染源追朔及預防，芽菜萌發過程中避免病原菌族群增長的技術開發的研究。

依照美國食品藥物管理局所建立的作業指南 (Guidance for Industry) 規定芽菜生產必須依照：1. 生鮮蔬果生產指導手冊 (Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables)，2. 降低芽菜病原污染的指導手冊 (Guidance for Industry: Reducing Microbial Food Safety Hazards For Sprouted Seeds)，芽菜生產灌溉水的取樣作業指導手冊 (Guidance for Industry: Sampling And Microbial Testing Of Spent Irrigation Water During Sprout Production) 以及 4.生產即時實用食品 (ready to eat, RTE) 的優良操作規範 (GMPs)，標準作業流程 (SOPs) 以及生產環境採樣檢測建議，才進行芽菜之生產。

而在加拿大則是要求在芽菜生產工廠，必須在生產的流程中設置檢測點 (critical control point)，針對可能殘留的化學物質或是污染的微生物如沙門氏桿菌 (*Salmonella*) 及大腸桿菌 (*E. coli* O157:H7) 進行檢測。

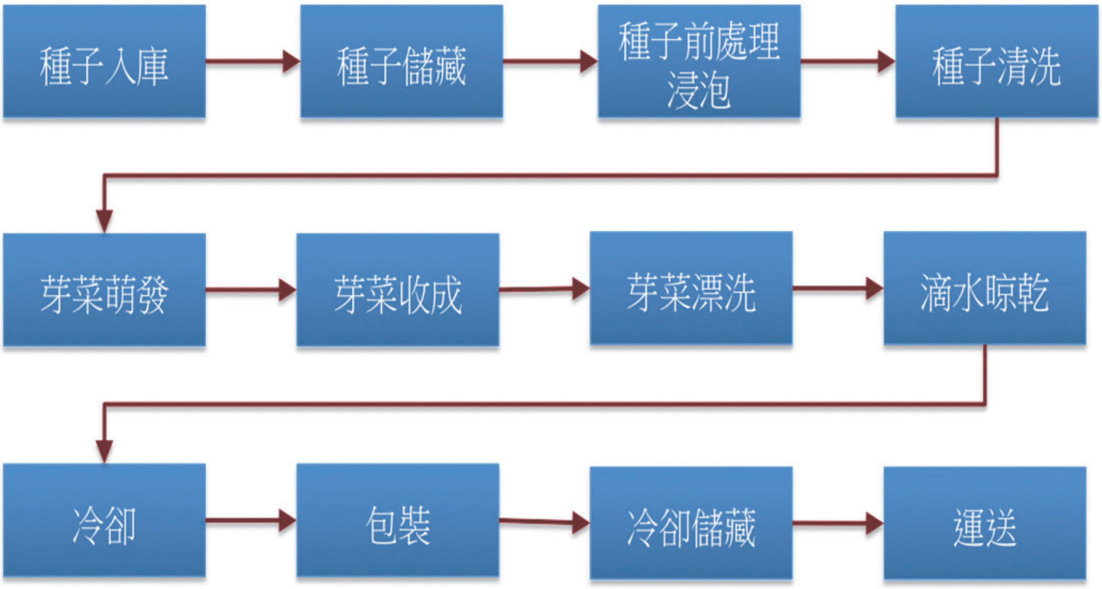

圖 4. 美國食品藥物管理局-芽菜生產流程

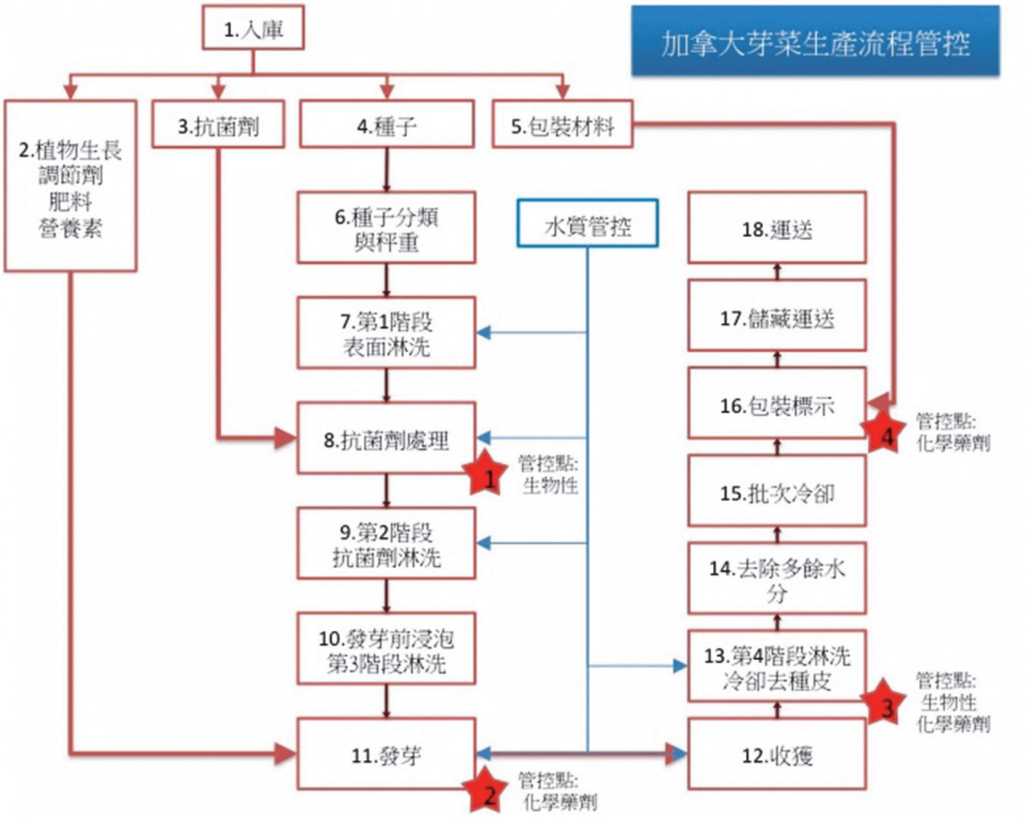

圖 5. 加拿大芽菜生產管控流程

圖 6. 103 年安全芽菜生產技術示範觀摩會與會人員合照

圖 7. 由本場楊佐琦場長主持安全芽菜生產技術示範觀摩會。

圖 8. 農糧署蔬菜花卉科陳立儀視察與會關心台灣安全芽菜生產。

圖 9. 本場李美娟研究員針對安全芽菜生產技術進行專題報告。

參考文獻

鄭榮瑞、盛中德。綠豆芽生長環境控制因子與生產模式之研究-生長溫度與生長特性之探討。農業機械學刊 16：39–51。

方新政、林正斌、林一品。1992。芽苗菜培育 技術之研究。台南區農業改良場研究彙報 28: 13–22。

方新政。1996。芽苗菜培育。芽苗菜培育及食譜利用。台南區農業改良場技術專刊 85–2 (No.66)。

丘應模。1995。清潔蔬菜。渡假出版社有限公司。

李保真等。1993。中草藥保健飲料。渡假出版社有限公司。

李時珍。1990。本草綱目。隆泉書局。

葉茂生、鄭隨和。1991。台灣豆類植物資源彩色圖鑑。行政院農業委員會。

詹國連、劉慧瑛。1991。黃豆芽及適用品種簡介。台灣省農業試驗所技術服務第 6 期。

歐陽光。1993。小麥草與苜蓿芽。青春出版社。

FAO. 1970.Amino acid content of foods and biological data on proteins Food and Agric. Org. of the U.N., Rome.

Gopalan, C., B. V. Ramasastri and S. C. Balasubramanian. 1980. Nutritive Value of Indian Foods. National Institute of Nutrition. Ind. Coun. Med. Res. Hyderabad. p.63.

Peterson, D. M., J. Senturia, V. L. Youngs, and L. E. Schrader. 1975. Elemental composition of oat groat. J. Agric. Food Chem. 23:9–13.

Shukla, T.P. 1975. Chemistry of oats：Protein foods and other industrial products. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 6:383–431.

http://agriauto.bime.ntu.edu.tw/Result/agric09.htm

http://www.cna.com.tw/news/firstnews/201411145005-1.aspx

http://e-info.org.tw/taxonomy/term/21985

Techniques establishment of Healthy sprout production and cultivation management

Mei-Jiuan Li[1*], Yen-Hsin Chiu[2], Ying-Fei Lo[2]

[1] Researcher, Director office, Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Assistant Researcher (Y. H. Chiu) and Assistant Researcher (Y. F. Lo), respectively, Propagation Technology Section, Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, Taichung, Taiwan, ROC.

[*] Corresponding author, Email: ann@tss.gov.tw

Abstract

Sprouts are good and cheap vegetable source and the production of sprouts is not affected by Typhoon in Taiwan. Recently news exposed that the producers added the illegal chemical such as sulfurous acid sodium salt (Na_2SO_3) during the sprout production procedure. The consumers start to doubt the safety of sprouts. In this research, we checked and used physical method to reduce the microbial population in mug beans. We also collected the sprout products form super markets or traditional markets and checked chemical. In 2014, we compared the cost and market sold prices of sprout production procedures between the traditional and safety methods. The meeting of safety sprout production was held on 26th June, 2014. Participates showed their high interesting to this program. Even the price of safety sprout products is not as cheap as traditional products. The safety issues of sprout are still concerned by customers. Because people in Taiwan are getting used to eat some kinds of sprouts as European countries. The relevant provisions in America and Canada also are introduced in this research.

Key words: Sprout crops, Safety production, Pressed sprout cultivation box, Management of production procedure.